

Zárójelentés

Kiváló minőségű cellulóz alapú textíliák előállítása környezetbarát biotechnológiai eljárással

1. Bevezetés

Az elmúlt években a szál- és rostos anyagokat feldolgozó iparágak jelentősen átalakultak az egész világon. A szálanyagok tradicionális textilipari felhasználása mellett egyre jelentősebb a műszaki célú felhasználásuk. A hagyományos folyamatok is alapvetően módosultak, és a környezetbarát, alacsony víz-, vegyszer- és energiaigényű technológiák kerültek előtérbe. Mára az is bebizonyosodott, hogy a versenyképesség megtartása, illetve fokozása csak nagy hozzáadott értékű végtermékek hatékony előállításával lehetséges.

A kilencvenes évek közepétől kezdődően a biotechnológia textilipari alkalmazása nagy lehetőséget teremtett az új, és szokatlan tulajdonságokkal rendelkező, kiváló minőségű textíliák környezetbarát előállítására. Az elmúlt években a természetes szálanyagok enzimes előkezelésére és tisztítására, színezhetőségének befolyásolására és kikészítésére több, enzimmel végzett eljárás vált ismertté. Közülük néhány széleskörűen alkalmazott ipari technológiává vált, és bebizonyosodott az is, hogy nemcsak a technológiai főfolyamatban, hanem az elfolyó vizek kezelésében is észrevehető a biológiai módszer előnye [1, 2].

A természetes szálak - amelyek fő alkotói általában a zsírok, a viaszok, a keményítő, a hemicellulózok, a cellulóz, a lignin, a különböző fehérjék stb. - ideális szubsztrátumok az enzimek különböző fajtái számára. Feldolgozásuk során számos lehetőség van biológiai rendszerek alkalmazására. A cellulóz alapú szálanyagok (pamut, len, kender) kikészítése során elsősorban az előkészítés és a végkikészítés során alkalmazhatók enzimek. Az előkészítés során cél a természetes és mesterséges károsanyagok eltávolítása, és ezáltal jó nedvszívóképességű és megfelelő fehérségű textília előállítása. A végkikészítés célja kiváló felületi tulajdonságú, megfelelő esésű és külső megjelenésű textília előállítása. Mindkét folyamatra jellemző, hogy hidrolitikus enzimek alkalmazásával érhető el a kívánt hatás [3].

A BME Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszékének Műanyag- és Gumiipari Laboratóriumában, valamint az Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszékén évek óta foglalkozunk a cellulóz alapú szálanyagok (pamut, len, kender) enzimes technológiai folyamataival [4, 5, 6]. Kutatásainkat az OTKA mindvégig támogatta. Az elmúlt időszakban – a most záruló OTKA pályázat keretén belül - elsősorban az előkészítésnek enzimekkel történő hatékonyabbá tételére, illetve a vegyszeres kezelések enzimkatalizált folyamatokkal történő helyettesítésére koncentráltunk. Részletesen vizsgáltuk pamut és len szövetek enzimes előkészítését, a lignintartalmú károsanyagok hatékony eltávolítását, a szövetek fehéríthetőségét és felületi tulajdonságait. A kutatómunka során a munkatervben meghatározott feladatokat maradéktalanul teljesítettük.

A bioelőkészítés területén született kutatási eredményeink azt bizonyították, hogy az eddig alkalmazott hidrolitikus enzimek (celluláz, pektináz, xilanáz) a vizsgált szálanyagok lignin-holocellulóz tartalmú károsanyagainak holocellulóz részét jelentősen degradálják, a lignin degradációjának elősegítésében viszont csak közvetve, kis hatékonysággal vesznek részt. A lignin enzimes degradációja oxidatív enzimekkel katalizálható. A kutatómunkánkat tehát kiterjesztettük az oxidatív enzimek alkalmazására, amely a munkatervben ugyan nem

szerepelt, de szorosan kapcsolódik az eddig elvégzett kutatási munkához. Az oxidatív enzimekkel nyert kutatási eredmények kiegészítették és teljesebbé tették a korábban tervezett kísérleti munkát, és ígéretes folytatási lehetőséget kínálnak.

2. A pamut bioelőkészítése

Nyers pamutszövet enzimikus kezelését vizsgáltuk különböző enzimrendszerek és adalékanyagok (komplexbéplők) alkalmazásával. A legnehezebben bontható maghéj szennyezés degradációjának követésére kitüntetett figyelmet fordítottunk. Részletesen vizsgáltuk az enzim-komplexbéplő rendszert [7, 8].

Az előkészítés-fehérítés feladata a szálanyagok természetes és mesterséges kísérőanyagainak az eltávolításával jó nedvszívóképességű és megfelelő fehérségű textília előállítása. Enzimikus előkészítés során *celluláz*, *pektináz* és *xilanáz* enzimeket alkalmaztunk. A hidrofób szálfelületet okozó viaszos anyagok eltávolítását a szövet nedvesedőképességének mérésével, illetve a tömegvesztés meghatározásával követtük. A természetes színezőanyagok degradációjának mértékét színméréssel jellemeztük. Vizsgáltuk az enzimmel kezelt szövetek fehéríthetőségét is.

2.1. Nedvesedőképesség, fehérség, fehéríthetőség

Jó nedvszívóképességű szövet előállítása előfeltétele az előkészítést követő vegyszeres lépések eredményes megvalósításának. Kísérleti eredményeink azt bizonyítják, hogy celluláz, pektináz-celluláz és tiszta xilanáz enzimeket alkalmazva nem-ionos nedvesítőszert jelenlétében a hagyományosan nátrium-hidroxiddal főzött szövet nedvesedőképességével megegyező felületi tulajdonságú szöveteket nyerünk. A szövetek cseppentéssel mért nedvesedési ideje kisebb, mint 1 s.

A lúgos főzés jelentős tömegvesztést okoz (5,2 %). Az enzimikus kezelések közül csak a celluláz enzimikus kezelés okoz mérhető, de nem jelentős tömegvesztést (0,8 %). A szakirodalomban többször felmerül a kérdés, hogy vajon szükséges-e 5 % körüli tömegcsökkenést okozó tisztító művelet alkalmazása, vagy esetleg kisebb kísérőanyag mennyiség eltávolításával is megfelelő minőségű szövet nyerhető. Eredményeink egyértelműen bizonyítják, hogy már minimális kísérőanyag-eltávolítás is jó nedvszívóképességű szövetet eredményez. Az enzimikus kezelések során mért elhanyagolható tömegvesztés azt is bizonyítja, hogy egyik kezelés sem okoz számottevő szövetkárosodást.

A természetes színezőanyagok eltávolítása a pamutszövetből jól követhető színméréssel. A mért értékek alapján megállapítható, hogy valamennyi kezelés világosabb és kevésbé színes szövetet eredményez. De míg a lúgos főzésnél rendkívül jelentős a színkülönbség (ΔE_{ab}^* 8,4), addig az enzimikus kezelések után csupán szemmel alig észrevehető a színváltozás. Következésképpen tehát a hagyományosan főzött és az enzimmel előkezelt szövetek között nincs különbség a nedvesedőképességben, van viszont a színben: a hagyományos technológia lényegesen világosabb és kevésbé színes szövetet eredményez. Egyik kezelés sem rontja a színegyenletességet.

A hagyományosan főzött és az bioelőkészített szövetek között meglévő jelentős színkülönbség enyhe hidrogén peroxidos fehérítéssel csökkenthető, mivel a bioelőkészített szövetek fehéríthetősége lényegesen jobb, mint a hagyományosan lúgos főzött szöveteké. A fehérítés nem rontja a színegyenletességet.

2.2. Enzim – komplexképző rendszer vizsgálata

Korábbi vizsgálataink azt bizonyították, hogy komplexképző jelenlétében végzett enzimes kezeléskor a látszólagos enzimaktivitás nő és hatékonyabb a kísérőanyagok eltávolítása bioelőkészítéskor [9]. Az elmúlt időszakban egyrészt a szubsztrátum, másrészt az enzim oldaláról részletesen megvizsgáltuk ezt a területet. Pamutmagháj degradációját tanulmányoztuk komplexképző jelenlétében és anélkül, valamint komplexképzős előkezelést alkalmazva. Vizsgáltuk továbbá az enzimek aktivitását komplexképző jelenlétében és anélkül.

A maghájvizsgálatok azt bizonyították, hogy mind az EDTA-val végzett előkezelés, mind az enzim és EDTA együttes alkalmazása jelentősen javítja a bioelőkészítés tömegveszteséggel jellemzett hatékonyságát. Legnagyobb mértékű maghájdegradáció EDTA-s előkezelés és azt követően alkalmazott enzimes kezelés hatására következik be. Az enzimhatást jellemző redukáló cukor vizsgálatok viszont azt mutatták, hogy míg az EDTA és enzim együttes alkalmazásakor jelentősen nő a keletkező redukáló végcsoportok száma, addig az EDTA-s előkezelés után alkalmazott enzimes kezelés során jelentősen csökken a felszabaduló redukáló cukor mennyisége. Az EDTA azáltal, hogy a pektin láncok közötti kalcium-hidakat eltávolítja a szubsztrátumból, megváltoztatja annak hozzáférhetőségét, és ezáltal az enzimes kezelés hatékonyságát.

Az EDTA és enzim együttes alkalmazásakor a kalcium-hidak eltávolítása következtében viszonylag nyitottabb szerkezettel érintkezik az enzim és fejt ki nagyobb hatását, amit a megnövekedett redukáló cukor mennyisége bizonyít. Az EDTA-t előkezelés során alkalmazva viszont valószínű, hogy a kalcium eltávolítását követő nyitottabb szerkezet összeomlik mire az enzim érintkezik a szubsztrátummal. Ennek következtében egy kevésbé hozzáférhető rendszeren kell az enzimnek kifejtenie hatását, ami – ahogy azt a lecsökkent redukáló cukor mennyiség is mutatja – sokkal kevésbé hatékony.

Megvizsgáltuk az enzimaktivitásokat EDTA komplexképző jelenlétében. Mérési eredményeink azt bizonyítják, hogy az enzimek domináns aktivitása nem változik EDTA jelenlétében, ugyanakkor a kísérőenzimek aktivitását kismértékben módosítja az EDTA.

Összefoglalva a fentieket: a bioelőkészített szövetek ugyanolyan jól nedvesednek, mint a hagyományosan főzött szövetek, fehérségük viszont elmarad a hagyományosan főzött szövetekétől, bár fehéritettségük lényegesen jobb. Enyhe hidrogén-peroxidos kezelés alkalmazása tehát a bioelőkészítés után jelentősen csökkenti a hagyományosan és enzimátikus úton előkészített szövetek közötti színelkülönbséget. Az enzimes kezelést komplexképző jelenlétében alkalmazva jelentősen megnő az oldatba került redukáló végcsoportot tartalmazó oligomerek száma. Komplexképzős előkezelés után alkalmazott enzimes kezelés viszont kevésbé hatékony. A komplexképző megváltoztatja a szubsztrátum szerkezetét és azáltal a hozzáférhetőségét.

3. A len bioelőkészítése

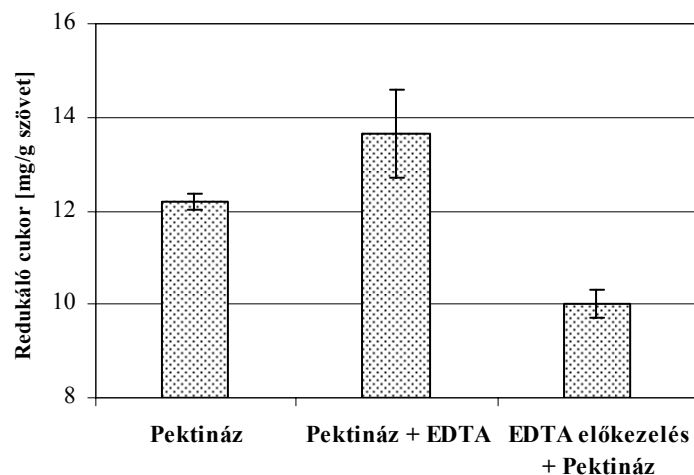
A len bioelőkészítésének tanulmányozása során pektináz enzimeket alkalmaztunk és részletesen tanulmányoztuk az enzim - EDTA rendszer hatását a len kísérőanyagainak (hemicellulózok, pektin, viaszok, természetes színezékek, ásványi anyagok) eltávolítására. Mértük a lenszövetek tömegveszteségét és az enzimes kezelések során felszabaduló redukáló

cukor mennyiségét. Követtük a fémion-tartalom változását, a kezelések okozta színváltozást, továbbá a nedvesedőképesség, a vízvisszatartás és a szakítószilárdság alakulását [10, 11].

3.1. A len pektináz enzim kezelése EDTA komplexképző alkalmazásával

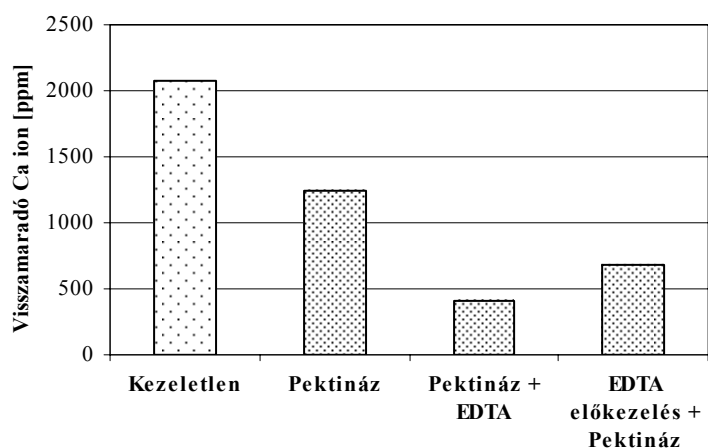
Az alkalmazott kezelések 1,9-3,7 % közötti tömegcsökkenést okoznak. Az enzimhatás jelentősen fokozható EDTA adagolással. Legnagyobb tömegvesztés az EDTA előkezelés és azt követő enzim kezelés hatására következik be.

A felszabaduló redukáló cukor mennyisége jellemzi az enzim adott rendszerben kifejtett katalitikus hatását. Az enzim hatás hatékonysága jelentősen nő, ha EDTA komplexképzőt adunk a rendszerhez. A mért értékek azt bizonyítják, hogy a pektin láncokat összekötő kalcium-hidak eltávolításával nő a szubsztrátum hozzáférhetősége az enzim számára. Ezzel szemben az EDTA előkezelést követő enzim kezelés során a felszabaduló redukáló cukor mennyisége jelentősen csökken (1. ábra).



1. ábra. Pektináz enzim és EDTA komplexképző hatása a felszabaduló redukáló cukor mennyiségére nyers lencszövet biológiai készítése során

A savas pektinázos kezelés jelentős kalcium és magnézium-ion csökkenést okoz a lencszövetben. Lényegesen hatékonyabb a fémion-tartalom eltávolítás, ha az enzimet és az EDTA-t egy fürdőben alkalmazzuk. Ennél kisebb mértékben csökkenti a kalcium tartalmat az EDTA-s előkezelés és azt követő enzim kezelés (2. ábra).



2. ábra. Pektináz enzim és EDTA komplexképző hatása lenszövet kalcium-ion tartalmára a biológiai készítés után

A kezeletlen és a különböző módon kezelt szövetek közötti színelkülönbség jelentős, szemmel is jól látható. Legnagyobb színelkülönbséget EDTA-s előkezelés és azt követő enzim kezelés alkalmazásával sikerült elérni. Minden kezelés világosodást és kevésbé színes szövetet eredményezett.

A nedvesedőképességet cseppentéssel vizsgálva megállapítható, hogy a kezeletlen szövet nem nedvesedik, a kezelt szövetek viszont jól nedvesednek. Nem mérhető szignifikáns különbség a különböző módon kezelt szövetek nedvesedőképességében.

3.2. A pektináz és xilanáz enzimek hatásának összehasonlítása

Mindkét enzim esetén a legnagyobb tömegvesztést az EDTA előkezelést követő enzim kezelés hatására következik be.

A felszabaduló redukáló cukor szempontjából a Viscozyme L enzim (pektináz) a hatékonyabb, mert hatására jóval nagyobb redukáló cukor tartalom mérhető, mint Pulpzyme HC (xilanáz) esetén. Viscozyme L esetén az enzim-EDTA együttes alkalmazásakor, míg Pulpzyme HC-t használva a csak enzim kezelését követően szabadul fel a legnagyobb mennyiségben a redukáló cukor.

A fémion-tartalom csökkenést vizsgálva mindkét enzim esetén EDTA komplexképző hatására jelentősen csökken a kalcium- és magnézium-tartalom. A magnézium-tartalom csökkenést vizsgálva megállapítható, hogy a Pulpzyme HC enzim jóval nagyobb csökkenést eredményez, mint a Viscozyme L.

A színelkülönbséget és a szövetek világosodását vizsgálva megállapítható, hogy Viscozyme L esetén jóval nagyobb a színváltozás, mint a Pulpzyme HC enzimnél. Mindkét enzim esetén a legnagyobb színelkülönbség EDTA-s előkezelés alkalmazásával érhető el.

Mindkét enzim jól nedvesedő szövetet eredményez.

Összefoglalva a fentieket: a len bioelőkészítése során megvizsgáltuk a kísérőanyagok eltávolítását különböző enzimeket alkalmazva. Megállapítottuk, hogy az enzimes kezelést komplexképző jelenlétében alkalmazva jelentősen megnő az oldatba került redukáló végcsoportot tartalmazó oligomerek száma. A komplexképzős előkezelés után alkalmazott enzimes kezelés viszont kevésbé hatékony. A komplexképző megváltoztatja a szubsztrátum szerkezetét, és azáltal a hozzáférhetőségét is az enzim számára.

4. A biofehérítés mechanizmusának felderítése, valamint a pamutmaghéj szerkezeti jellemzőinek és kémiai tulajdonságainak meghatározása

Az elmúlt időszakban született tudományos munkákból nyilvánvalóvá vált, hogy a bioelőkészítés széleskörű elterjedését a maghéjak nem megfelelő eltávolítása korlátozza. A pamutmaghéj eltávolítását célzó tanszéki kutatásokból a közelmúltban született eredmények azt bizonyították, hogy a xilanáz enzimek hatékonyak egyrészt a maghéj-degradációban, másrészt a nem degradálódott részek színének a jelentős világosításában. Ez utóbbi hatás analóg a papíriparban ismert és alkalmazott biobleaching hatásával.

Részletesen tanulmányoztuk a pamutmaghéj lignin-holocellulóz rendszerének enzimes bontását. Összefüggést kerestünk a lignin-kioldódás mértéke és a visszamaradó szubsztrátum világossága között [12].

4.1. Xilanáz enzimes kezelés hatása a maghéj lignin-holocellulóz rendszerének bontására

Pulpsyme HC tiszta xilanáz enzimet alkalmaztunk, amely gyakorlatilag nem tartalmaz más enzimkomponenst. A pamutmaghéj kb. 30 % ligninből és 40 % holocellulózból áll. A holocellulózt α -cellulóz és pentozánok alkotják. A pentozánok nagy része xilán.

A xilanáz enzim a pamutmaghéjat degradálja. Hemicellulóz, lignin és ásványi anyagok oldódnak ki a kezelés során a maghéjból. A kezelési idő és az enzimkoncentráció növelése fokozza a maghéjdegradációt. 1 g/l xilanáz enzimet tartalmazó oldatban 55 °C-on 60 percig tartó kezelés 36 mg/l redukáló cukor koncentrációt eredményez, ami mutatja a szénhidrát komponensek degradációját. A kezelési időt 120 percre növelve az oldat redukáló cukor koncentrációja 48 mg/l-re nő. Az enzimkoncentrációt 2 ml/l-re növelve szintén jelentős növekedés tapasztalható a szénhidrát komponensek degradációjában.

Az enzimes kezelés hatására kioldódó lignin fragmensek koncentrációját UV spektroszkópiával (280 nm-en) határoztuk meg. A vizsgálatok azt bizonyították, hogy a pamutmaghéj lignin az enzimes kezelése során csak kismértékben oldódik. Az enzimes kezelőoldatok lignin koncentrációja kisebb, mint 0,5 g/l.

Az enzimes előkezelés viszont jelentősen befolyásolja a maghéj-lignin lúgos degradációját. Enzimes előkezelés nélkül a lúgos kezelés során kb. 1 g/l lignin oldódik ki a maghéjból. Enzimes előkezelés után alkalmazott lúgos főzés során viszont a kezelési időtől és az enzimkoncentrációtól függően 4-7 g/l az oldódó lignin-fragmensek mennyisége.

Míg a felszabaduló redukáló cukor mennyiségének és az oldat lignin koncentrációjának meghatározása a maghéj lignin-holocellulóz rendszerét alkotó polimerek bontását jellemzik, addig a kezelése során mérhető tömegveszteség a kezelés teljes degradáló hatását mutatja. Enzimes kezelés során 10,1–11,9 % tömegveszteség mérhető. Lúgos kezelés a maghéj 66 %-át oldhatóvá teszi. 1 g/l xilanáz enzimes előkezelést alkalmazva

a lúgos kezelés során mérhető tömegveszteség 69-71 %-ra nő. 2 g/l xilanáz enzimkoncentráció esetén a mért tömegveszteség 74,0-75,6 %.

A tömegveszteség és ligninkoncentráció értékek azt bizonyítják, hogy az enzimes kezelés során a hemicellulóz alkotórészek részleges hidrolízise és azt követő távozása hozzáférhetővé teszi a maghéj szubsztrátumot az enzimes kezelést követő vegyszeres kezelés (lúgos főzés) számára. A hemicellulózok (elsősorban xilánok) a lignin és a cellulóz között keresztkötéseket képeznek. Bontásukkal megszakad a lignin és a cellulóz közötti kémiai kapcsolat, ami azt eredményezi, hogy a lignin eltávolítása kevésbé lesz gátolt a vegyszeres kezelése során.

Az enzimes kezeléseket jelentős világosodást okoznak és befolyásolják a szubsztrátum színét a lúgos kezelés után is. Eredményeink azt bizonyítják, hogy egyértelmű kapcsolat van a lignin kioldódás mértéke és a szubsztrátum világosodása között. A xilanáz enzimes előkezelés "biobleaching" hatása tehát bebizonyosodott.

4.2. A pamutmaghéj alkáli ligninjének vizsgálata TG és TG-MS módszerrel

Kezeletlen és xilanáz enzimmel előkezelt maghéjminták lúgoldható ligninjének termikus bomlását vizsgáltuk. Célunk annak meghatározása, hogy vajon a maghéjból lúg hatására kioldódó lignin fragmensek termikus viselkedése megváltozik-e annak köszönhetően, hogy a lúgos kezelést xilanáz enzimes kezelés előzte meg. A bomlástermékek jellemző tömeg/töltés csúcsainak azonosítását szakirodalmi adatok alapján végeztük el. Az adatokból a két alkáli lignin szerkezetére próbáltunk következtetni.

A xilanáz enzimmel előkezelt maghéjmintából nyert lúgoldható lignin termikus viselkedése - az enzimes előkezelés következtében - kismértékben eltér a kezeletlen minta lúgoldható ligninjétől. Eltérés a bomlási periódus első szakaszában 334 °C-nál, második szakaszában pedig 600 °C fölött tapasztalható. Az enzimmel előkezelt mintából nyert alkáli lignin egyes alkotói 334 °C körüli hőmérsékleten bomlanak. A kezeletlen minta alkáli ligninjében 600 °C fölött lejátszódó folyamatok nagyobb tömegveszteséget okoznak és a folyamat végén - 990 °C közelében - kisebb a szilárd maradék mennyisége (15,7 %), mint az enzimmel előkezelt mintánál (21,8 %).

A scan analóg tömegspektrumokon jól látszik, hogy a két lignin minta tömegspektruma alapvetően megegyezik, csak kisebb különbségek tapasztalhatók. A spektrumok alapján egyértelmű, hogy a nem előkezelt maghéj alkáli ligninje egységesebb anyag, jobban kivehető diszkrét csúcsokat ad és lényegesen nagyobb intenzitással, mint a xilanázzal előkezelt anyag ligninje. Ez utóbbi lignin elmosódottabb, kevésbé éles csúcsai összetettebb szerkezetre utalnak.

Összefoglalva a fentieket: A pamut bioelőkészítése során a pamutmaghéj lignin-holocellulóz rendszerének enzimes bontását tanulmányoztuk. A lignin és a szénhidrát alkotók bomlásának követése, valamint a visszamaradó szubsztrátum színének mérése egyértelműen bizonyította a xilanáz enzimes előkezelés "biobleaching" hatását. A kezeletlen és a xilanáz enzimmel előkezelt maghéjminták lúgoldható ligninjének termikus bomlását tanulmányozva megállapítottuk, hogy az enzimes kezelés után kapott lúgoldható lignin összetettebb szerkezetű, mint az enzimes kezelés nélkül nyert lúgoldható lignin.

5. Pamut/len és pamut/kender keverék kötött kelmék bioelőkészítése

Különböző négyzetmétertömegű és kötéstípusú kelméket kezeltünk savas és lúgos közegben aktív pektináz enzimekkel, adalékanyagokat (komplekképzők) alkalmazva. Változtattuk az enzimes kezelést, továbbá az enzimes kezelést követő oxidációs fehérités paramétereit (enzimkoncentráció, kezelési idő, fürdőarány, hidrogén-peroxid koncentráció). Kontrollként a hagyományos módon vegyszeresen előkészített kelmék szolgáltak.

A len és kender tartalmú keverékek bioelőkészítése nagyobb figyelmet igényel, mint a 100 % pamut kelméé. A len és a kender lényegesen több természetes kísérőanyagot tartalmaz, mint a pamut, de teljes eltávolításuk nem szükséges az előkészítés során. A háncsrostot alkotó elemi szálakat pektin ragasztja össze. Ennek eltávolítása nem célja az előkészítésnek. Elsősorban a hidrofil szálfelület és a megfelelő fehérség elérése a cél háncsrostok esetében is.

5.1. Tömegveszteség alakulása

Az alkalmazott enzimek okozta tömegveszteség a kísérőanyagok eltávolításának mértékére utal. Nem mértünk olyan tömegveszteséget egyetlen enzimkoncentrációnál (0,8 - 6,6 %) sem, amely a cellulóz alkotó degradációjára utalna.

Bioelőkészítés:

100 % pamut összetételű kelme: 1,2 - 3,5 %

Pamut/len (70/30) összetételű kelme: 1,0 - 4,3 %

Pamut/kender (85/15) összetételű kelme: 2,2 - 4,3 %

Bioelőkészítés és fehérités:

100 % pamut összetételű kelme: 3,1 - 4,3 %

Pamut/len (70/30) összetételű kelme: 4,0 - 5,1 %

Pamut/kender (85/15) összetételű kelme: 3,5 - 5,2 %

5.2. Nedvesedőképesség alakulása

A 100 % pamut összetételű kelme nedvesedőképességének javítása lényegesen nehezebb, mint a pamut/len és a pamut/kender kelméé. A lúgos pektinázokkal a nedvesedőképesség javulás sokkal jelentősebb, mint a savas pektináz alkalmazásakor. Komplekképző hatása pozitív, a pektin eltávolítás fokozódik, a nedvesedési idő csökken.

5.3. Fehérség alakulása

Valamennyi enzimes kezelés jelentős világosodást, fehérség növekedést és sárgaság csökkenést eredményez. A színváltozás mértéke elmarad a hagyományos lúgos főzés során mérhető színekülönbség értékektől.

Összefoglalva a fentieket: A hagyományosan főzött és az enzimmel előkezelt pamut, pamut-len és pamut-kender kötött kelmék között nincs különbség a nedvesedőképességben, van viszont a színben: a hagyományos vegyszeres technológia lényegesen világosabb és kevésbé színes szövetet eredményez. Egyik kezelés sem rontja a színegyenletességet és a szilárdsági tulajdonságokat. A hagyományosan főzött és az bioelőkészített kelmék között meglévő színekülönbség enyhe hidrogén-peroxidos fehéritéssel jelentősen csökkenthető.

6. Oxidatív enzimek alkalmazása a bioelőkészítésben

6.1. Bevezetés

A hidrolitikus enzimeket évek óta óriási sikerrel alkalmazzák a cellulóz alapú szubsztrátumok feldolgozásában. Az utóbbi időben az érdeklődés az oxidatív enzimek felé fordult, és elmondható, hogy mára ez lett a legígéretesebb kutatási terület a textil biotechnológia és a cellulózzgyártás tématerületeken [13]. A lignin biodegradációjában résztvevő legfontosabb enzimek az oxidázok, a peroxidázok, a dehidrogenázok és a hidrogén-peroxidot termelő enzimek. Csak viszonylag kevés mikroorganizmus – elsősorban a fehérkorhadást okozó gombák – képes arra, hogy ligninbontó extracelluláris enzimeket termeljen. A lignin enzimes degradációja a polimerben kialakuló szabad radikálisokon alapuló reakció. A degradáció legalaposabban tanulmányozott enzimejei a fehérkorhadást okozó gombák – elsősorban a *Phanerochaete chrysosporium* – által termelt peroxidázok és a lakkázok.

A gomba eredetű peroxidázok alkotják a lignin biodegradációjában hatékony oxidatív enzimek első csoportját. Ide tartoznak a lignin-peroxidázok (LiP), a mangán-peroxidázok (MnP) és a mangán független peroxidázok (MIP). A lignindegradáció során a lignin-peroxidáz a legfontosabb (kulcs) enzim, ami a polimer fragmentációját katalizálja. A lignin-peroxidáz a lignin nem-fenolos részegységeit oxidálja egyelektron-átmenettel járó reakcióban. Az aromás magból kationgyök jön létre, ami képes kémiaiilag tovább bomlani. Lignin modellvegyületek segítségével kimutatták, hogy a lignin-peroxidázok a C α - C β kötések hasításáért, a gyűrűnyitáért, valamint számos más reakcióért is felelősek.

A mangán-peroxidáz a Mn(II)-t oxidálja Mn(III)-má, amelyet szerves savak pl. oxálsav, malonsav, tejsav stabilizálnak komplexképzés közben. Az Mn(III)-kelát oxidálja a lignin fenolos egységeit és fenoxi-radikálisok képződnek, amelyek aztán tovább hasítják a kötések az aromás gyűrű és az alfa-szénatom között. A MnP lignin-oxidáló kapacitása azonban korlátozott, mivel a fenolos szerkezetek aránya a lignin összes egységéhez képest csupán 10-15%. Ugyanakkor, mivel a Mn(III) radikálisokat képezhet a reakcióközegben jelen lévő ko-oxidánsokból (pl. tiolokból és a telítetlen zsírsavakból) is, a képződött (thioil és peroxi) radikálisok nagyon reaktívak és tovább vihetik az oxidációt a nem-fenolos lignin szerkezetekre is. A Mn(III)-kelát rendkívül erőteljes oxidáló ágens, amely képes oxidálni más, nem-fenolos aromás rendszereket, pl. színezékeket is.

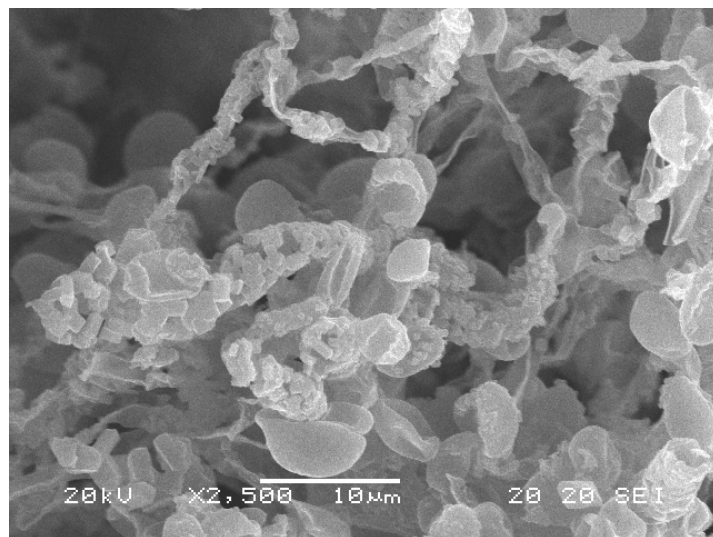
A lignin biodegradációjában hatékony oxidatív enzimek második csoportja az oxidoreduktázok. Ezek közül a legelterjedtebb a lakkáz, amely a lignin polimerizációjában és depolimerizációjában is részt vesz. A legtöbb izolált és jellemzett lakkáz gomba eredetű. Lakkázt, vagy lakkázhoz hasonló aktivitást azonban növényekben, rovarokban és néhány baktériumban is kimutattak. A növényi eredetű lakkázok a lignin bioszintézisében játszanak fontos szerepet, míg a gomba eredetűek a lignin degradációját végzik. A lakkázok a kék multi-réz oxidázok családjába tartoznak. A molekula katalitikus része négy réz atomot tartalmaz. Az egyik réz, mint elsődleges elektron akceptor, elektront von el a szubsztrátumtól, a többi binukleáris centrumot képez, ahol a molekuláris oxigén négyelektronos redukciója történik. Az oxigénből víz keletkezik, miközben a redukáló szubsztrátum négy, egyenként egyelektronos oxidációja lejátszódik. A lakkáz önmagában csak a fenolos lignin egységeket képes oxidálni, mediátorok (olyan kismolekulák, amelyek könnyen oxidálhatók a lakkázzal, majd az oxidált mediátor oxidálja aztán az aktuális szubsztrátot) alkalmazásával viszont már a

nem-fenolos lignin egységeket is. A lakkázok az aromás vegyületek széles skáláját képesek degradálni. Jelentős szerepük lehet a színes vegyületek elszíntelenítésében is [14, 15, 16].

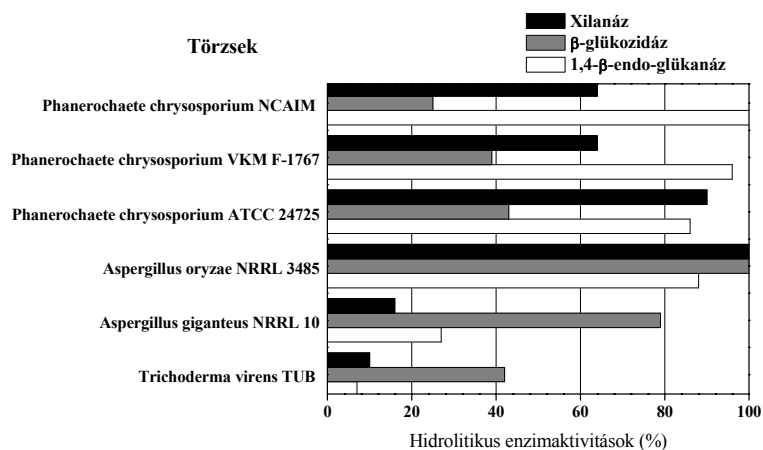
A kutatási időszak utolsó (5.) évében oxidatív enzimek előállítására és jellemzésére koncentráltunk. Oxidatív enzimeket szilárd fázisú fermentációval pamutmaghéj szubsztrátumon állítottunk elő, *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus giganteus*, *Trichoderma virens*, *Trichoderma reesei*, *Rhizopus oryzae*, *Mucor racemosus*, *Glodadium sp* törzsekkel. Jellemeztük a növekedési hajlamot és mértük a nyers enzimek készítmények LiP, MnP és lakkáz aktivitását. A nyers enzimek készítményeket pamut és len bioelőkészítése során alkalmaztuk [17, 18]. Elsősorban a pamut maghéj szennyeződéseinek, valamint a len lignintartalmú kísérőanyagainak a bomlását jellemeztük.

6.2. Oxidatív enzimek előállítása és jellemzése

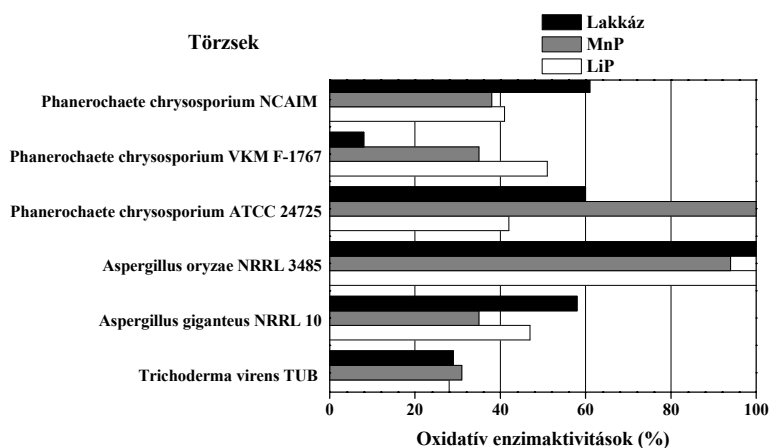
Az oxidatív enzimek rendkívül drágák, ezért előállításukat laboratóriumi körülmények között végeztük szilárd fázisú fermentációval. A szilárd szubsztrátum a pamutmaghéj volt (3. ábra). A maghéj lignin-holocellulóz rendszere megfelelő táptalajnak bizonyult hidrolitikus és oxidatív enzimek előállítására. A nyers enzimek készítmények hidrolitikus és oxidatív aktivitással is rendelkeztek (4. és 5. ábra). Legeredményesebb törzs az *Aspergillus oryzae* NRRL 3485 volt, amely jelentős hidrolitikus és oxidatív enzim termelésére is alkalmasnak bizonyult.



3. ábra. *Phanerochaete chrysosporium* VKM F-1767 növekedése pamutmaghéjon szilárdfázisú fermentáció során (SEM kép, M: 2500x)



4. ábra. A különböző törzsek hidrolitikus enzim termelő kapacitása szilárdfázisú fermentáció során, pamutmaghéj szubsztrátumon



5. ábra. A különböző törzsek oxidatív enzim termelő kapacitása szilárdfázisú fermentáció során, pamutmaghéj szubsztrátumon

6.3. Oxidatív enzimek alkalmazása a pamut és a len bioelőkészítésében

A szilárd fázisú fermentációval, pamutmaghéj szubsztrátumon előállított, hidrolitikus és oxidatív aktivitással is rendelkező nyers enzimmészítmények eredményesen alkalmazhatók a pamut és a len lignintartalmú kísérőanyagainak bontására a bielőkészítés során. A vizsgált törzsek közül a *Phanerochaete chrysosporium* NCAIM F00740 és a VKM F-1767, valamint az *Aspergillus oryzae* NRRL 3485 bizonyult a legeredményesebbnek a pamutmaghéj bontásban. Lenzővetek esetén a színes kísérőanyagok eltávolításában legjobb eredményeket *Ph. chrysosporium* VKM F-1767 törzsszel értünk el.

7. Összefoglalás

Kutatócsoportunk több mint 10 éve dolgozik a textil biotechnológia területén. Kutatásainkat mindig támogatta az OTKA. A kilencvenes évek közepén úttörő munkát

végeztünk a bioelőkészítés területén. Az elmúlt időszak kutatómunkájának eredményességét és az eredmények gyakorlatban történő alkalmazhatóságát bizonyítja az a tény, hogy 2005-ben sikeresen megtörtént a bioelőkészítés nagyüzemi bevezetése egy hazai vállalatnál, egy kutatás-fejlesztési projekt keretén belül. 2006-ban pedig a biokikészítést üzemésítettük sikeresen.

Kutatómunkánk eredményei túlmutatnak a jelen projekt keretein, és sokkal szélesebb alkalmazási területet jeleznek. Úgy gondoljuk, hogy az oxidatív enzimek kutatása, alkalmazási lehetőségeik felderítése, egy új és rendkívül ígéretes területe a textil biotechnológiának, ami hasznos eredményeket szolgáltathat más tudományterületek számára is. A hidrolitikus enzimek (és a biotechnológiai folyamatok) elmúlt években tapasztalt rendkívül gyors elterjedését figyelembe véve azt feltételezhetjük, hogy az oxidatív enzimek területén is jelentős áttörés következhet be az elkövetkezendő 3-5 évben.

Kutatómunkánk eredményeit hazai és nemzetközi fórumokon ismertettük. A legnagyobb európai textiles konferencián (21st IFATCC, Barcelona, Spain) májusban plenáris előadás tartására nyílik lehetőség [19]. Az eredményeket széleskörűen publikáltuk, elsősorban nemzetközi folyóiratokban. A legjelentősebb nemzetközi textiles folyóiratok (*Textile Research Journal*, *AATCC Review*) mellett nagyon jelentős biotechnológiai folyóiratokban (pl. *Enzyme and Microbial Technology*, *Biocatalysis & Biotransformation*) is lehetőségünk volt eredményeik közzétételére.

8. Hivatkozott irodalom

1. Sharma HSS (2005) Textile biotechnology in Europe - Hydrolases and oxidoreductases in processing, *AATCC Rev.* 5: 44-48.
2. Cavaco-Paulo, A.: Processing Textile Fibers with Enzymes: An Overview, Enzyme Application for Fiber Processing, K. Eriksson, A. Cavaco-Paulo, Eds., ACS Symposium Series 687, Washington, D C., Chap. 15, 180-189 (1998)
3. Nierstrasz, V. A., Warmoeskerken, M. M. C. G., Process Engineering and Industrial Enzyme Applications, in "Textile processing with enzymes", Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, England, pp. 129-131 (2003)
4. Csiszár, E., Szakács, Gy., Rusznák, I.: Combining Traditional Cotton Scouring with Cellulase Enzymatic Treatment, *Textile Research Journal* 68, (3) 163-167 (1998)
5. Csiszár, E., Szakács, G., Rusznák, I.: Bioscouring of Cotton Fabrics with Cellulase Enzyme, In *Enzyme Applications for Fiber Processing*, K. Eriksson, A. Cavaco-Paulo, Eds.; ACS Symposium Series 687, Washington, D.C., 1998, pp 204-211
6. Csiszár, E., Urbánszki, K., Szakács, G.: Biotreatment of desized cotton fabrics by commercial cellulase and xylanase enzymes, *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic* 11 1065-1072 (2001)
7. Losonczi, A., Csiszár, E., Szakács, G., Kareela, O.: Bleachability and Dyeing Properties of Biopretreated and Conventionally Scoured Cotton Fabrics, *Textile Research Journal*, 74 (6) 501-508 (2004)
8. Losonczi, A., Csiszár, E., Szakács, G., Bezúr, L.: Role of the EDTA Chelating Agent in Bioscouring of Cotton, *Textile Research Journal*, 75 (5) 411-417 (2005)

9. Csiszár, E., Losonczi, A., Szakács, G., Rusznák, I., Bezúr, L., Reicher, J.: Enzymes and Chelating Agent in Cotton Pretreatment, *J. Biotechnol.*, **89**, 271-279 (2001)
10. Csiszár, E., Somlai, P.: Improving Softness and Hand of Linen and Linen-Containing Fabrics with Finishing, *AATCC Review*, Vol. 4, No. 3. March, 17-21 (2004)
11. Csiszár, E., Losonczi, A., Szakács, G., Bezúr, L., Kustos, K.: Influence of EDTA Complexing Agent on Biopreparation of Linen Fabric, *Biocatalysis & Biotransformation*, Vol. 22 (5/6) 369-374 (2004)
12. Csiszár, E., Losonczi, A., Koczka, B., Szakács, G., Pomlénny, A.: Degradation of lignin-containing materials by xylanase in biopreparation of cotton, *Biotechnology Letters*, 28 (10) 749-753 (2006)
13. Viikari L, Suurnakki A, Buchert J (1996) Enzyme–aided bleaching of kraft pulps: fundamental mechanisms and practical applications. In: Jeffries TW, Viikari L eds. *Enzymes for pulp and paper processing*, ACS Symposium Series 655. American Chemical Society, Washington, D. C. pp. 15-24.
14. Grönqvist, S, Suurnakki, A., Niku-Paavola, M. L., Kruus, K., Buchert, J., Viikari, L.: Lignocellulose processing with oxidative enzymes, *Applications of Enzymes to Lignocellulosics*, ACS Symposium Series 855, Eds.: Mansfield, S. D., Saddler, J. N., 46-65 (2003.)
15. Datta, A., Bettermann, A., Kirk, K.: Identification of a specific manganese peroxidase among lignolytic enzymes secreted by *Phanerochaete chrysosporium* during wood decay, *Applied and Environmental Microbiology*, 1453-1460, May, (1991)
16. Papinutti, V L., Diorio, L. A., Forchiassion, F.: Production of laccase and manganese peroxidase by *Fomes sclerodermeus* grown on wheat bran, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 30, 157-160 (2003.)
17. Csiszár, E., Szakács, G., Koczka, B.: Biopreparation of Cotton Fabrics with Enzymes Produced by Solid-state Fermentation, *Enzyme and Microbial Technology*, 40 1765-1771 (2007)
18. Csiszár, E., Szakács, G., Koczka, B.: Effect of Hydrolytic and Oxidative Enzymes Produced by Solid-State Fermentation on Greige Linen Fabric, *Biocatalysis & Biotransformation*, Accepted (2008)
19. Csiszár, E.: Application of enzyme technologies in finishing of cellulosic fabrics - From theory through practice, 21st IFATCC International Congress, May 6-9, Barcelona, Spain – Plenary lecture